AUS DER MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT BERN

DIREKTOR: PROFESSOR DR. W. FREY

Beeinflussung der experimentell durch Cholesterin und Vitamin D beim Kaninchen erzeugten Aortensklerose mit Vitamin A und Cynara scolimus

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern vorgelegt von

Jean-Louis Clerc

Môtiers, Neuchâtel

1942

1943 . BUCHDRUCKEREI ZIMMERMANN & CIE. AG. . BERN

AUS DER MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT BERN

DIREKTOR: PROFESSOR DR. W. FREY

Beeinflussung der experimentell durch Cholesterin und Vitamin D beim Kaninchen erzeugten Aortensklerose mit Vitamin A und Cynara scolimus

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern vorgelegt von

Jean-Louis Clerc

Môtiers, Neuchâtel

1943 . BUCHDRUCKEREI ZIMMERMANN & CIE. AG. . BERN

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. W. Frey,
Direktors der Medizinischen Klinik der Universität Bern,
von der Medizinischen Fakultät zum Druck
als Dissertation genehmigt

Der Dekan der Medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. A. von Muralt

Bern, den 3. Juni 1942

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A mes parents

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung und Literatur 5

Eigene Versuche 10

I. Versuche über die Vitamin-D-Sklerose . . 10

II. Versuche über die mit Cholesterinfütterung erzeugten Aortenveränderungen beim Kaninchen 16

Diskussion und Schlussfolgerungen 20

Zusammenfassung 26

Einleitung und Literatur.

Das Kernproblem der Arterioskleroseforschung ist das Bestreben, der Pathogenese der Erkrankung näher zu kommen. Zu diesem Zweck haben sich seit langer Zeit zahlreiche Autoren bemüht, experimentell am Tier Veränderungen zu erzielen, die der menschlichen Arteriosklerose ähnlich sind. Alle die zahlreichen Versuche mit verschiedenen Mitteln haben nur teilweise zum Ziel geführt, hauptsächlich auch deshalb, weil zuviel von ihnen erwartet wurde. Die Arteriosklerose ist ätiologisch keine einheitliche Krankheit. Es ist deshalb in dieser Beziehung von einem äusseren Faktor irgendwelcher Art keine Klärung zu erwarten. Es ist dagegen klar, dass die experimentelle Erzeugung einer Sklerose durch irgendeine Massnahme in Beziehung auf diesen Teilfaktor wertvolle Aufschlüsse geben kann.

Eine ganz hervorstechende Rolle hat in dieser Beziehung die experimentelle Cholesterinsklerose gespielt, die lange Zeit und heute noch für die Pathogenese der menschlichen Erkrankung eine ungeheure Rolle gespielt hat. Das Cholesterinproblem stand, wie es sich immer wieder gezeigt hat, viel zu stark im Vordergrund. Erst in neuerer Zeit bricht sich immer mehr die Auffassung Bahn, dass Störungen im Cholesterinstoffwechsel nur Teilfaktoren in der Skleroseentstehung bedeuten, gerade so wie die Hypertonie, wie mechanische und andere Faktoren. Trotzdem ist es immerhin eine feststehende Tatsache, dass zum mindesten beim Kaninchen durch eine einseitige Cholesterinernährung, die zu einer ungeheuren Ueberlastung des wenig leistungsfähigen Stoffwechsels führt, Lipoidablagerungen in der Aorta zu erzielen sind, die im weiteren auch zu bindegewebigen und zelligen Veränderungen führen.

Eng verwandt mit dem Cholesterin ist das Ergosterin und das Vitamin D, die beide in hohem Masse Sklerose erzeugend wirken können *(Kreitmaier* und *Moll)*.

Morphologisch unterscheiden sich die Sklerosen, welche durch diese drei Stoffe hervorgerufen werden können, sehr wesentlich.

Das *Vitamin D* bewirkt im Tierversuch eine sehr wesentliche Störung im Kalkstoffwechsel, die zu einer starken Hypercalcaemie führt. Auf welchem Wege diese zustande kommt, haben wir hier nicht zu diskutieren. Anderseits hat das Vitamin D sehr intensive toxische Einflüsse auf das Gewebe sobald es überdosiert wird. Es handelt sich dabei besonders um gewisse Fraktionen, die toxischer wirken als

andere. Immerhin muss betont werden, dass die Störung im Kalkstoffwechsel und die toxische Wirkung auf das Gewebe jedem Vitamin D zukommt, sobald es überdosiert wird, sodass also behauptet werden kann, dass es sich um eine eigentliche Hypervitaminose handelt und nicht einfach um eine Nebenwirkung toxischer Substanzen.

Was die Wirkung auf das Gefässsystem betrifft, so finden wir in der Aorta nach ganz kurzer Zeit Veränderungen in der Media im Form von Nekrosen, die infolge der grossen Hypercalcaemie ausserordentlich rasch verkalken. Das Bild imponiert infolgedessen in erster Linie als massive Verkalkung, die zuerst in der Zwischensubstanz, später aber auch in den elastischen Elementen zustande kommt. Unverkalkte Nekrosen sind weit weniger häufig als bei der Adrenalinsklerose, die ja histologisch zu einem ähnlichen Endresultat führt. Es zeigt schon diese Tatsache, dass es sich auch hier um verschiedene Faktoren handelt die zur Verkalkung führen, wobei einerseits der Gewebsfaktor und anderseits Kalkstoffwechselstörungen zu unterstreichen sind. Unter toxischer Wirkung auf das Gewebe hat man wohl besonders Schädigungen des neuromuskulären Apparats der Gefässwand zu verstehen, der als hochdifferenziertes Gewebe am empfindlichsten ist. Die Lähmung der Muskulatur führt zur Erweiterung des Gefässes und dadurch, wie das *Lange* annimmt, zu Störungen in der Durchströmung der Gefässwand, zur Ernährungsstörung und zur Nekrose. Die Verkalkung ist sekundär, abhängig von der Kalkstoffwechselstörung. Ob es primär zu Verkalkungen der unveränderten Zwischensubstanz und elastischen Fasern kommt, scheint uns äusserst zweifelhaft. Die Veränderungen nach Vergiftung mit Vitamin D sind besonders von *Kreitmaier* und *Moll, Pfannenstiel, Herzenberger* und zahlreichen anderen Autoren beschrieben worden. Was die Veränderungen durch bestrahltes Ergosterin betrifft, so unterscheiden sie sich durch nichts von den Vitamin-D-Schäden.

Abgesehen von den Gefässschäden bewirkt das Vitamin D im Organismus Schädigungen in den verschiedensten Geweben, die zum Teil auch zu Nekrosen und Verkalkungen führen.

Die Allgemeinwirkung auf den Kaninchenorganismus ist sehr heftig. Die Ueberdosierung führt in kurzer Zeit zu einer rapiden Verschlechterung des Allgemeinzustandes und zu einer raschen Abmagerung. Dies beruht wohl vorwiegend auf den toxischen Einflüssen und weniger auf der Kalkstoffwechselstörung.

Das *Cholesterin* wirkt auf den Kaninchenorganismus weit weniger toxisch. Sofern es in einem pflanzlichen Oel verabreicht wird, führt es beim Kaninchen, dessen Cholesterinspiegel in der Norm recht niedrig ist, zu einer ausserordentlich hohen Cholesterinaemie, die über 500 mg % hinausgehen kann. Der Organismus wird also durch die unphysiologische, einseitige Ernährung sehr stark mit Cholesterin überlastet, wo-

durch es zu Lipoidablagerungen in zahlreichen Organen kommt. Es ist festzuhalten, dass solche Ablagerungen nicht nur in der Aorta zustande kommen, dass sie sogar in anderen Organen erheblich früher eintreten. Es handelt sich also um eine allgemeine Lipoidose und nicht um eine Gefässchädigung.

Die wichtige Rolle des Cholesterins wurde zuerst von den pathologischen Anatomen und Chemikern erfasst. Ganz in den Vordergrund trat aber das Problem erst als es einerseits *Anitschkow* und *Chalatow,* anderseits *Wacker* und *Hueck* gelang, am Kaninchen durch einseitige Cholesterinfütterung Arterien-, insbesondere Aortenveränderungen zu erzielen. Durch diese Ergebnisse erklärten sich auch die Versuche von *Ignatowsky,* der die Veränderungen nach einseitiger Eiweissfütterung zuerst auf das Eiweiss bezogen hatte. Die Versuche von *Anitschkow* und der russischen Schule wurden später von sehr zahlreichen Autoren nachgeprüft und erweitert, ohne dass eigentlich etwas prinzipiell Neues hinzugefügt werden konnte.

Bei den Veränderungen in der Aorta handelte es sich makroskopisch um kleine Erhebungen in der Intima von verschiedener Grösse und weisslich-gelblicher Farbe. Die Prädilektionsstelle ist der Anfangsteil der Aorta, besonders die Abgangsstellen der Gefässe. Bei langer Dauer der Cholesterinüberlastung können die Intimaflecken grösser werden und zum Teil konfluieren. Mikroskopisch handelt es sich um Lipoidablagerungen, anfänglich in der interstitiellen Substanz zwischen Intimaendothel und Elastica interna, die allerdings beim Kaninchen nicht sehr deutlich ausgebildet ist. Bald kommt es dann zu einer gewissen Verdickung der Intima auf zellulärer Grundlage und vor allem zum Auftreten grosser runder Zellen, die reichlich Lipoid enthalten und als Xanthomzellen bezeichnet werden können. Es wird meistens angenommen, dass diese Zellen Phagocyten sind, die aus dem Blut stammen. Es kommt dann im weiteren zur Aufsplitterung der innersten elastischen Fasern und zu einer Ansammlung von solchen Xanthomzellen in ihrem Netzwerk. Sobald diese Lipoidkomplexe eine gewisse Grösse haben, ist ihre Ernährung nicht mehr gewährleistet, und es kann damit zur Bildung von eigentlichen Atheromen kommen. Da die Verdickung der Intima über dem Atherom beim Kaninchen recht erheblich ist, kommt es nicht zum Durchbruch. In späteren Stadien findet sich in solchen Stellen der Gefässwand auch eine gewisse Verkalkung. Ueberlebt das Kaninchen die Fütterungsperiode um längere Zeit, so werden die Lipoidmassen zum grössten Teil wieder resorbiert und es bleiben oft fast rein fibröse Intimaverdickungen zurück.

Diese Versuche haben auf die experimentelle Forschung und auf die Auffassung über die Pathogenese der Arteriosklerose einen ungeheuren Einfluss gehabt, so dass das Cholesterinproblem für viele

Jahre absolut im Vordergrund stand. Sie stützten ferner auch die Auffassung, dass die primären Veränderungen bei der Arteriosklerose immer in der Intima liegen. Dieser Vorrangstellung des Cholesterins liegt unter anderem die Annahme zugrunde, dass sklerotische Veränderungen erzeugt werden können durch eine reine Hypercholesterinaemie, ohne irgendwelche andere Faktoren. An dieser Auffassung wurde schon immer gezweifelt, auch von klinischer Seite, indem zum Beispiel gewisse Krankheiten mit hoher Cholesterinaemie (Nephrose) nicht zu besonders starken sklerotischen Veränderungen führen. Manche Autoren, zum Beispiel *Klotz,* hatten immer die Meinung, auch bei der Cholesterinsklerose einen «Gewebsfaktor» anzunehmen, der die Gewebe zur Aufnahme von Cholesterin bereit machte. Es ist nun nachgewiesen worden, dass Veränderungen im Eiweissbestand der Kaninchenaortenwand nach Cholesterinfütterung zustande kommen, bevor histologisch irgendwelche Veränderungen im Gewebe sichtbar sind *(Schönholzer).* Wir möchten daher annehmen, dass auch hier ein disponierender Faktor im Gewebe vorhanden ist, der in Eiweissveränderungen besteht. Die Eiweissveränderungen bestehen hauptsächlich in einer Vergröberung des Dispersitätsgrades, was die Neigung zur Adsorption von Cholesterin und auch von Kalk verständlich macht. Adsorbiert wird je nach der Situation bei der Hypercholesterinaemie Cholesterin, bei der Hypercalcaemie Kalk. Die Hypercholesterinaemie, die bei der menschlichen Arteriosklerose noch immer umstritten ist und umstritten bleiben wird, weil sie nicht immer vorhanden ist, rückt damit auf den Rang eines Teilfaktors zurück, der wohl wichtig ist, aber im übrigen parallel zu manchen anderen Faktoren steht (Hypertension usw.).

Therapeutische Versuche bei experimentellen Aortenveränderungen wurden schon oft angestellt. Sie sind prinzipiell in der Lage, wertvolle Aufschlüsse zu geben, sofern man sich bewusst ist, dass bei therapeutischen Versuchen an experimentell erzeugten Veränderungen nur die Therapie eines Teilfaktors in der Enstehung der Arteriosklerose beurteilt werden kann.

Was die Vitamin-D-Schädigung anbetrifft, so ist bei ihr von vorneherein kein schlagender therapeutischer Erfolg zu erwarten, da die Giftwirkung ausserordentlich intensiv ist. *Orzechowsky* versuchte die Vitamin-D-Schädigung durch Knoblauchöl zu vermeiden, das Ergebnis war negativ. Durch Zufuhr von Schilddrüsenhormon bekam *Schaal* eine Verstärkung der Aortenverkalkung. *Sanchez* erreichte bei den rachitischen Ratten, welche durch Vitamin-D-Ueberdosierung Gewichtsstillstand zeigten, durch Hefefütterung ein Ausbleiben der Verkalkungen innerer Organe, insbesondere der Aorta. Von besonderem Interesse ist die Tatsache, dass zwischen Vitamin D und Vitamin A ein gewisser Antagonismus besteht, der sich im ganzen wohl mehr auf die toxische Komponente bezieht, als auf die Kalkstoffwechselstörung. *Gross-Selbeck* gibt denn auch an, dass grosse Dosen von Vitamin A

in der Lage sind, die durch Vitamin D gesetzten Schäden zu verhüten, was das Allgemeinbefinden und das Wachstum betrifft.

Es hat uns nun interessiert, nachzusehen, wie sich das Gefässsystem bei Vitamin-D-Vergiftung verhält unter gleichzeitiger Gabe grosser Dosen Vitamin A.

Die meisten therapeutischen Versuche wurden bei Kaninchen nach Cholesterinfütterung angestellt. Mehrere Autoren, besonders *Liebig*, untersuchten die Wirkung des Iods auf die Cholesterinsklerose des Kaninchens. Aus den Versuchen kann angenommen werden, dass das Iod eine deutliche Schutzwirkung gegenüber dem Cholesterin bietet. Es kann wohl mit Recht angenommen werden, dass diese Wirkung auf dem Weg über die Schilddrüse geht. Es ist denn auch die Verabreichung von Schilddrüsenpräparaten oder von Thyroxin ebenfalls in dieser Beziehung deutlich wirksam *(Turner, Wegelin, Friedland, Handowsky und Goormaghtigh)*.

Das von *Bürgi* in der Therapie eingeführte Chlorophyll hat nach den Untersuchungen von *Gordonoff* ebenfalls eine deutliche antagonistische Wirkung und vermag die Cholesterinsklerose beim Kaninchen zu verhüten.

Uns hat besonders ein anderes pflanzliches Produkt interessiert, nämlich das aktive Prinzip aus der Artischocke (Cynara scolimus), das als Chophytol im Handel ist.

Von französischen Autoren *(Tixier und Eck, Edgar Rosa, Chabrol, Charonat, Maximin und Weitz)*, aber auch von *Schönholzer*, ist gezeigt worden, dass das Chophytol einen konstanten Einfluss auf das sogenannte cholesterolytische Vermögen (pouvoir cholestérolytique) hat, das nach Chophytol regelmässig ansteigt.

Unter *cholesterolytischem Vermögen* versteht man die Fähigkeit des Blutserums, zusätzlich, über seinen Cholesteringehalt hinaus, Cholesterin aufzulösen. Wird einer Serumportion kristallisiertes Cholesterin zugesetzt, die Portion zweimal 24 Stunden im Brutschrank aufbewahrt und dann im filtrierten Serum das Cholesterin wieder bestimmt, so ergeben sich in Beziehung zum ursprünglichen Cholesteringehalt drei Möglichkeiten:

1. Das Serum enthält nachher mehr Cholesterin als vorher, es war also imstande, Cholesterin zusätzlich aufzulösen: *Positives cholesterolytisches Vermögen.*
2. Das Serum enthält nachher weniger Cholesterin als vorher, es ist unter dem Einfluss des Cholesterinzusatzes solches ausgefallen: *Negatives cholesterolytisches Vermögen.*
3. Das Serum enthält nachher gleichviel Cholesterin wie vorher: Cholesterolytisches Vermögen gleich Null.

Die oben erwähnten Autoren haben gezeigt, dass das cholesterolytische Vermögen im Alter und besonders bei Arteriosklerotikern und Hypertonikern sozusagen immer negativ ist, während es in der Jugend deutlich positiv ist. Auf was dies beruht, ist heute nicht bekannt, sicher ist nur, dass die absolute Höhe des Cholesterinspiegels keine Rolle

spielt, indem z. B. das cholesterolytische Vermögen einerseits bei einer Hypercholesterinaemie von über 900 mg % deutlich positiv gefunden werden kann, während es andererseits bei einem Cholesteringehalt von 120 mg % bei einem Arteriosklerotiker stark negativ ist.

In der Annahme, dass das cholesterolytische Vermögen des Serums einen Masstab geben kann über die Tendenz des Serums, Cholesterin im Gewebe ausfallen zu lassen, scheint die Tatsache, dass es durch Chophytol sozusagen immer von negativen auf deutlich positive Werte gebracht werden kann, von grossem Interesse. Ebenfalls interessant ist die Beobachtung, dass nach Chophytol der Cholesterinspiegel zuerst ansteigt, wobei das cholesterolytische Vermögen positiv wird, dass dann aber in einer zweiten Phase der Cholesterinspiegel unter den Ausgangswert sinkt. Man hat den Eindruck, dass durch das Chophytol Cholesterin im Organismus mobilisiert wird und anscheinend ausgeschieden wird.

Aus diesen Gründen interessierten wir uns für die Wirkung des Chophytols auf die experimentelle Cholesterinsklerose des Kaninchens.

Eigene Versuche.

I. Versuche über die Vitamin-D-Sklerose.

1. Therapeutischer Versuch mit Vitamin A.

a) Methodisches:

Wir verwendeten *zwei* Gruppen zu je fünf Kaninchen des gleichen Wurfes, wovon die *erste* Gruppe einen Monat lang täglich 1 g Vogan (= 2,5 Tr. = 120 000 I. E. Vitamin A) als *Vorbehandlung* bekamen. Das Vitamin A, Oel, wurde dem Kartoffelbrei beigemengt, welcher als Futter diente. Daraufhin wurde allen zehn Versuchstieren während zehn aufeinanderfolgenden Tagen je ein cm³ Vigantol (Vit. D) mittels Pipette per os zugeführt. So konnte jedem Tier ohne Schwierigkeiten eine Dosis von 30 mg (150 000 I. E.) Vitamin D zugeführt werden. Auch während dieser Versuchsperiode bekamen die fünf ersten Tiere weiterhin das Vitamin A, Oel, in ihre Nahrung.

Als Kriterium zur Beurteilung der Aortenveränderungen wurden erstens die makroskopische und mikroskopische Untersuchung der Aorta, zweitens der Kalziumgehalt der veraschten Aorten herangezogen. Das makroskopische Präparat wurde beschrieben, z. T. photographisch festgehalten. Histologisch wurden Schnitte durch den Arcus untersucht, die mit Hämalaun-Eosin, Scharlachrot und Elastin gefärbt wurden. Ein Nativpräparat wurde mit dem Polarisationsmikroskop untersucht. Die Kalziumbestimmung in den Aorten erfolgte nach der üblichen Mikromethode nach *van Slyke* und *Sendroy*, durch Fällung des Ca als Kalziumoxalat, wie sie in *Hinsberg's* „Mikroanalyse" beschrieben ist. Sie besteht in folgendem: Das im Exsikkator getrocknete Organ wird im Platintiegel trocken verascht und unter Glühen in saubere weisse Asche umgewandelt. Diese Asche wird in ClH aufgelöst, auf ein ganz kleines Volumen gebracht und in Wasser auf ein passendes Volumen gebracht. Zu einer Menge Lösung, in welcher sich voraussichtlich nicht mehr als 0,2 mg Ca befand, wurde 1 cm³ 20% Na-Azetat zugegeben, 6 bis 8 Tropfen 0,016% Bromkresolgrünlösung. War die Farbe der Lösung derjenigen einer Phosphatpufferlösung pH 5, worin sich auch 6 bis 8 Tropfen Indikator befanden, gleich, konnte mit einem cm³ Amonoxalat die Fällung vor sich gehen. War dies nicht der Fall, mit anderen Worten, hatte die Lösung einen anderen pH als 5, wurde mit Zugabe von NH_3 1:1 nachgeholfen; worauf dann 1 cm³

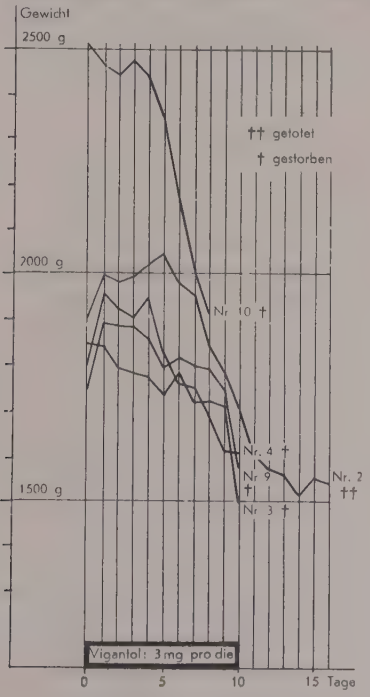
Ammonoxalat die Fällung des Ca bewirkte. Nach längerem Stehen wurde viermal zentrifugiert, die Waschflüssigkeit, welche aus NH_3 Wasser bestand, vorsichtig abgegossen, der Niederschlag in SO_4H_2 gelöst und mit n/100 MnO_4K titriert. Um eine wichtige Fehlerquelle zu umgehen, wurde durchwegs das gläserne Material in Chromschwefelsäure aufbewahrt und ausgiebig mit destilliertem Wasser gewaschen. Zur Herstellung der Lösungen und der verschiedenen Verdünnungen wurde stets bidestilliertes Wasser verwendet.

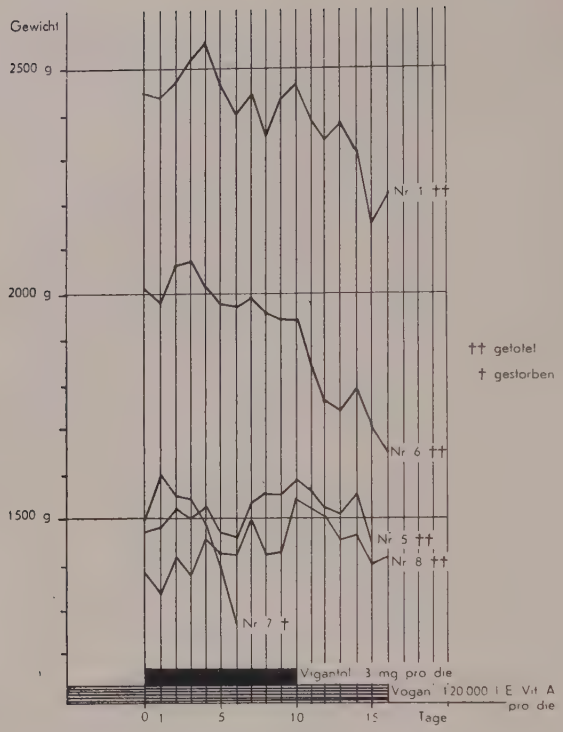
b) Klinischer Verlauf des Versuches:

Während dem ersten Monat zeigten alle Tiere einen normalen Gewichtsverlauf, und die fünf Vitamin-A-Tiere waren durch nichts von den anderen zu unterscheiden. Mit dem Einsetzen der Vitamin-D-Zufuhr trat nach kurzer Zeit für die unvorbehandelten Tiere ein schwerer Gewichtsabfall auf, welcher von einem apathischen Verhalten mit Appetitlosigkeit begleitet war. Die mit Vitamin A vorbehandelten Tiere dagegen behielten entweder ein verzögertes Ansteigen des Gewichts bei, oder zeigten ein weniger starkes Absinken desselben und durchwegs ein viel besseres Allgemeinverhalten als die nichtvorbehandelten Tiere, sie hatten guten Appetit und glänzendes Fell.

Vier von den fünf nicht vorbehandelten Tieren starben zwischen dem neunten und zehnten Tag der Vitamin-D-Zufuhr, währenddem die mit Vitamin A vorbehandelten Tiere sechs Tage später getötet wurden.

Den Verlauf des Körpergewichts zeigen folgende Kurven:





c) Makroskopischer Befund an den Aorten:

Tiere mit Vitamin D allein (pro die: 3 mg = 15 000 I. E. Totaldosis in zehn Tagen: 30 mg = 150 000 I. E.).

Nr. 2. Starke Sklerosierung, klafft beim Querschneiden.

Nr. 3. Aorta stark verändert, klafft auf dem Querschnitt und rollt sich beim Längsschnitt.

Nr. 4. Aorta stark verkalkt, rollt sich beim Schneiden.

Nr. 9. Starke Veränderungen der Aortenwand.

Nr. 10. (Totaldosis infolge frühzeitigem Absterben: 24 mg = 120 000 I. E.) Leichte Aortenklerosierung, äusserlich am Gefäss fühlbar. Beim Schneiden rollt sich die Gefässwand rückwärts. Carotidenmündung nicht verändert. Hauptveränderung an der Aorta thoracica.

Tiere mit Vitamin D und Vitamin A (pro die 120 000 I. E. Vitamin A in Form von Vogan, dazu täglich 3 mg Vitamin D während zehn Tagen in Form von Vigantol. Totaldosis von Vitamin D somit 30 mg = 150 000 I. E. Totaldosis Vitamin A: 46 Tage zu je 120 000 I. E. = $6{,}24 \cdot 10^6$. I. E.)

Nr. 1. Sehr deutliche Aortenveränderungen. Am Arcus bucklige Ausweitungen. Carotiden deutlich sklerotisch. Herzklappen ebenfalls sklerosiert.

Nr. 6. Aorta stark sklerotisch, klafft beim Querschneiden.

Nr. 8. Aorta normal weit und zart. Keine Veränderungen nachzuweisen. Wand weich.

Nr. 5. (Ein Tag vor den anderen getötet, deshalb Totaldosis Vitamin A: $6{,}12 \cdot 10^6$. I. E.) Aorta sklerotisch, klafft auf dem Querschnitt.

Nr. 7. (Frühzeitiges Absterben, deshalb Totaldosis Vitamin A: 36 Tage zu 12 000 I. E. = 5,04 . 10^6 . I. E. Totaldosis Vitamin D: 18 mg = 90 000 I. E.). Aorta äusserst stark sklerotisch, als starres Rohr zu palpieren, knirscht beim Einschneiden. Carotiden stark sklerosiert.

Zusammenfassend kann man sagen, dass der makroskopische Befund einer typischen Vitamin-D-Sklerose bei allen Versuchstieren festzustellen war. Eine geringere Intensität der Veränderungen ist bei den mit Vitamin A behandelten Tieren nicht festzustellen. Einzig Nr. 8 wies eine ganz normale Aortenwand auf und gehört zu letzterer Gruppe. Aber auch Nr. 7 wurde mit Vitamin A vorbehandelt und wies die stärkste überhaupt beobachtete Veränderung der Aorta auf.

d) Mikroskopischer Befund an den Aorten:

Tiere mit Vitamin D allein:

Die bekannten Veränderungen sind durchwegs in recht gleichmässiger Intensität zu finden. In der Hauptsache sind es breite, homogene Kalkmassen in der Innenseite der Media, welche zum Teil daselbst die elastischen Fasern zum Verschwinden gebracht haben. Zwei Aorten weisen eine leichte Verfettung der Intimazellen über den Stellen stärkerer Mediaveränderungen auf; auch finden sich an einer Stelle kleine Rundzelleninfiltrate um die Kalkmassen herum (Nr. 10).

Tiere mit Vitamin D und Vitamin A:

Die Mediaveränderungen sind histologisch dieselben wie bei vorhergehenden Tieren. Aorta Nr. 7 weist sehr intensive Kalkablagerung auf, während auf den Schnitten Nr. 8 keine pathologischen Veränderungen nachzuweisen sind.

Die histologische Untersuchung der Aorten ergibt somit keinen Unterschied in der Intensität der gesetzten Veränderungen zwischen den beiden Versuchsgruppen. Alle Aorten ausser Nr. 8 weisen die typischen Veränderungen der Vitamin-D-Sklerose auf.

e) Der Kalziumgehalt der veraschten Aorten lässt sich aus folgender Tabelle darstellen:

1. Tiere mit Vitamin D allein:

Nr.	Aorten frisch Gewicht	Aorten trocken Gewicht	Aorten Asche in mg	Aorten ca. mg gesamt	Ca. % der Asche	Ca. % des Trocken-Gewichts
2	1,209	0,134	77	20,59	26,5	15,4
3	0,689	0,224	30	7,37	24,5	3,3
4	1,033	0,260	22	7,60	34,5	2,9
9	0,779	0,242	26	7,58	29,1	3,1
10	0,936	0,234	70	9,10	13,0	3,8
Durchschnitt	0,929	0,218	45	10,44	23,7	5,7

2. Tiere mit Vitamin D und Vitamin A:

Nr.	Aorten frisch Gewicht	Aorten trocken Gewicht	Aorten Asche in mg	Aorten ca. mg gesamt	Ca. % der Asche	Ca. % des Trocken-Gewichts
1	1,104	0,363	47	16,68	35,4	4,5
5	0,495	0,131	62	22,41	36,1	17,1
6	1,260	0,323	65	22,03	33,9	6,82
7	2,033	0,690	240	102,0	42,5	14,8
8	0,500	0,138	2	0,20	10,05	0,14
Durchschnitt	1,078	0,289	83,2	32,66	**31,5**	**8,6**

3. Normalwerte von Kaninchenaorten junger Tiere:

	Aorten frisch Gewicht	Aorten trocken Gewicht	Aorten Asche in mg	Aorten ca. mg gesamt	Ca. % der Asche	Ca. % des Trocken-Gewichts
	0,873	0,304	8	0,33	4,1	0,11
	0,713	0,233	15	0,28	1,8	0,12
	0,374	0,123	1,5	0,24	16,0	0,19
Durchschnitt	0,653	0,220	8	0,28	**7,3**	**0,14**

Es ergibt sich somit ein Unterschied im Kalziumgehalt der beiden Versuchsgruppen: Sowohl auf das Aschengewicht als auf das Trockengewicht berechnet, ist der prozentuale Aortenkalziumgehalt der Tiere, welche nur mit Vitamin D behandelt wurden, ein geringerer, als derjenige der Tiere, die mit Vitamin A vorbehandelt worden waren. Diese Feststellung erlaubt zum mindesten zu sagen, dass das Vitamin A in der Dosierung, welche verabfolgt wurde, die Vitamin-D-Sklerose der Kaninchenaorta nicht zu verhüten vermag.

Andererseits haben die Tiere, welche mit Vitamin A vorbehandelt wurden, durchschnittlich fünf Tage länger gelebt als die nicht vorbehandelten, was die Annahme berechtigen kann, dass sie in dieser Zeit eine stärkere Verkalkung der Aorta zu bilden Gelegenheit gehabt haben. Diese Feststellung ändert an der Tatsache nichts, dass die Vitamin-A-Verabfolgung während 30 Tagen zu je 1 g Vogan täglich (120000 I. E. Vitamin A) die schweren Aortenveränderungen durch zehntägige Applikation von 3 mg Vitamin D (Vigantol) nicht zu vermeiden oder zu mildern in der Lage war, obschon auch während der Vitamin-D-Verabreichung die Vitamin-A-Medikation fortgesetzt wurde.

Die auffallendste Wirkung der Vitamin-A-Zufuhr bestand somit darin, dass die behandelten Tiere einen wesentlich besseren Allgemeinzustand und eine weniger alterierte Gewichtskurve als die Kontrolltiere

aufwiesen, was durch die Tatsache, dass vier von den fünf Vigantoltieren sofort nach der Vitamin-D-Zufuhr starben, während nur ein mit Vitamin A behandeltes Tier frühzeitig zugrunde ging, bestätigt wird.

Die Untersuchung auf den Kalziumgehalt von Herz und Niere der Versuchstiere ergab folgendes:

Kalziumgehalt der Herzmuskulatur der Tiere mit Vitamin D allein:

Nr.	Frisch-Gewicht der Probe	Trocken-Gewicht der Probe	Asche mg	Ca. mg gesamt	Ca. % der Asche	Ca. % des Trocken-Gewichts
2	1,141	0,253	21	6,35	30,23	2,50
3	1,736	0,666	45	7,26	16,13	1,09
4	1,928	0,442	25	2,00	8,00	0,45
9	1,682	0,248	6	0,24	4,0	0,09
10	2,301	0,522	29	6,70	23,10	1,27
Durchschnitt					**16,29**	**1,08**

Kalziumgehalt der Herzmuskulatur der Tiere mit Vitamin A und Vitamin D:

Nr.	Frisch-Gewicht der Probe	Trocken-Gewicht der Probe	Asche mg	Ca. mg gesamt	Ca. % der Asche	Ca. % des Trocken-Gewichts
1	1,890	0,466	25	2,34	9,36	0,50
5	1,013	0,231	16	2,51	15,68	1,09
6	1,802	0,385	24	0,46	1,91	0,10
7	1,571	0,385	54	0,37	0,68	0,09
8	1,170	0,225	16	0,93	5,84	0,41
Durchschnitt					**6,69**	**0,43**

Kalziumgehalt des Nierengewebes der Tiere mit Vitamin D allein:

Nr.	Frisch-Gewicht der Probe	Trocken-Gewicht der Probe	Asche in mg	Ca. mg gesamt	Ca. % der Asche	Ca. % der Trocken-Substanz
2	0,969	0,451	26	2,67	10,62	0,59
3	1,486	0,368	24	0,40	1,66	0,11
4	2,629	1,113	110	28,60	23,83	2,56
9	1,167	0,288	54	10,80	20,0	3,75
10	4,462	1,027	64	6,00	9,37	0,58
Durchschnitt					**13,02**	**1,51**

Kalziumgehalt des Nierengewebes der Tiere mit Vitamin-A- und Vitamin-D-Behandlung:

Nr.	Frisch-Gewicht der Probe	Trocken-Gewicht der Probe	Asche in mg	Ca. mg gesamt	Ca. % der Asche	Ca. % der Trocken-Substanz
1	2,087	0,419	14	0,63	4.50	0,15
5	1,785	0,415	15	5,48	36,53	1,32
6	1,913	0,416	33	1,03	3,12	0,24
7	2,674	0,558		1,91		0,34
8	2,236	0,481	18	0,37	2,06	0,07
Durchschnitt					**11,55**	**0,42**

Es zeigt sich also, dass sowohl die Nieren als die Herzmuskulatur der Tiere, welche mit Vitamin A behandelt wurden, einen geringeren Kalziumgehalt aufweisen. Ob dies auf eine stärkere Schädigung dieser Organe durch das Vitamin D in Abwesenheit des Vitamin-A-Schutzes hindeutet, lässt sich schwer beweisen.

Die *histologische Untersuchung der Organe* der beiden Versuchsgruppen ergab in bezug auf pathologische Veränderungen in quantitativer wie in qualitativer Hinsicht keinen nennenswerten Unterschied.

In den *Nieren* fanden sich sowohl in der Serie Nr. 2, 3, 4, 9, 10 wie in der Serie Nr. 1, 5, 6, 7, 8 zahlreiche Kalkzylinder und Verkalkungen der Nierengefässe. Eine Verkalkung der Glomeruluskapsel und der Zwischenräume zwischen den Sammelkanälchen fanden wir nicht, eine Veränderung, welche *Lass* bei chronischer Vitamin-D-Zufuhr beobachten konnte.

Die *Herz*muskulatur wies hie und da kleine herdförmige Anhäufungen von Entzündungszellen auf. Oefters fanden sich inmitten infiltrierter Bezirke blassblau gefärbte, kernlose, geschädigte Reste der Muskelfasern. An anderen Stellen fanden sich verkalkte Herzmuskelstücke. Eine Verfettung der Herzmuskelfasern konnten wir keine nachweisen. Die Herzgefässwände waren z. T. verkalkt.

Die *Leber* wies histologisch keine Besonderheiten auf.

II. Versuch über die mit Cholesterinfütterung erzeugte Aortenveränderung beim Kaninchen.

Wirkung des Extraktes aus Cynara scolimus.

a) Methodisches:

Zehn gleichaltrigen Kaninchen vom Mittelgewicht 1800 bis 2000, aus zwei Würfen, wurde täglich in der Nahrung, mit Leinöl vermischt, 1 g Cholesterin zugeführt, Fünf davon bekamen täglich eine Injektion von 2,5 cm^3 Chophytol-s-c.

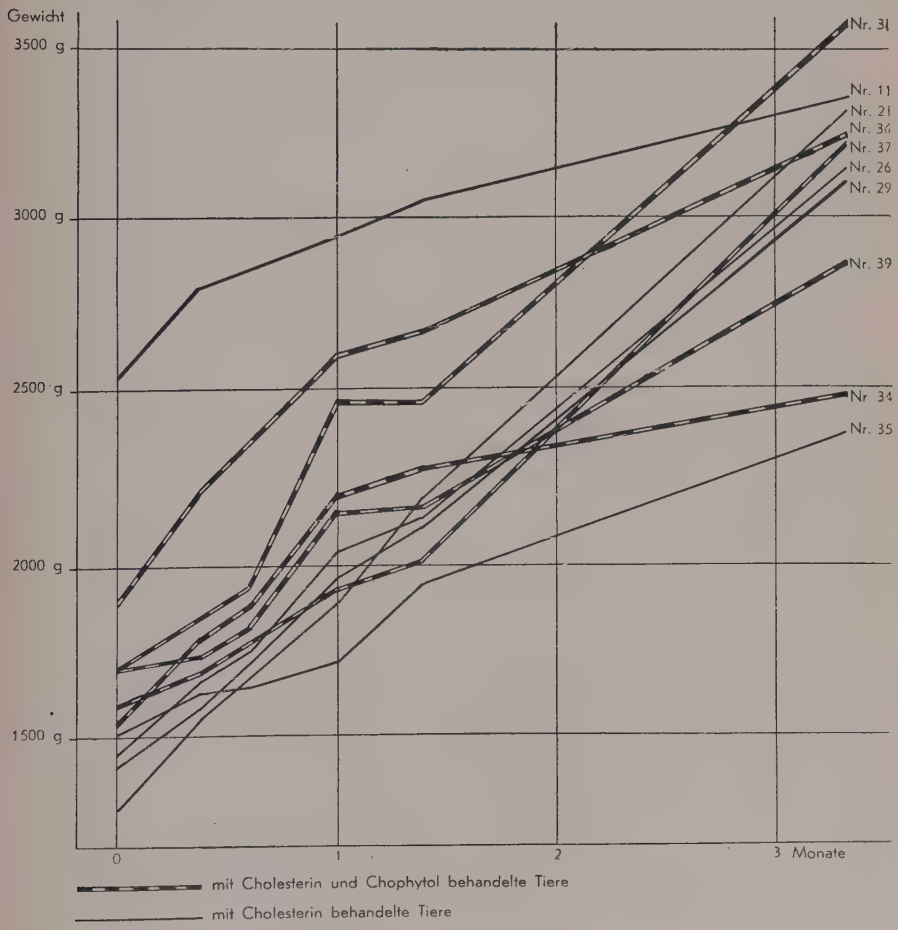
Diese Behandlung dauerte genau dreieinhalb Monate (3. VI. 39 bis 18. IX. 39). Während dieser Zeit wurde also jedem Tier 107 g Cholesterin und den fünf letzten 267 cm^3 Chophytol zugeführt.

Die Ernährung der Tiere war ein ganz normale, bestand aus Getreidekernen, frischen Gemüsen und Küchenresten.

b) Klinischer Verlauf:

Die Tiere gediehen unter der Behandlung durchwegs sehr gut, ihre Gewichtskurve ist eine normal ansteigende. In den letzten zwei Wochen vor der Tötung fiel auf, dass die fünf Tiere, welche Chophytol erhielten, lebendiger waren, auch ein deutlich glänzenderes Fell aufwiesen.

Gewichtskurve:



c) Makroskopische Untersuchung der Aorten:

1. Mit Cholesterin gefütterte Tiere, ohne Cynaratherapie:

Nr. 18. Aorta zeigt an der Intima wenige Plaques, besonders am Arcus.
Nr. 23. Aorta zeigt wenige Plaques an der Intima, besonders in Aorta abdominalis.
Nr. 26. Ueberall deutliche gelbliche Plaques auf der Aortenintima festzustellen.
Nr. 29. Am oberen Arcus aortae gelbe Plaques in der Intima, vereinzelte Intimaveränderungen gleicher Natur in der Aorta abdominalis.
Nr. 35. Deutliche gelbe Plaques auf der ganzen Aortenintima.

2. Cholesteringefütterte Tiere mit Cynaratherapie:

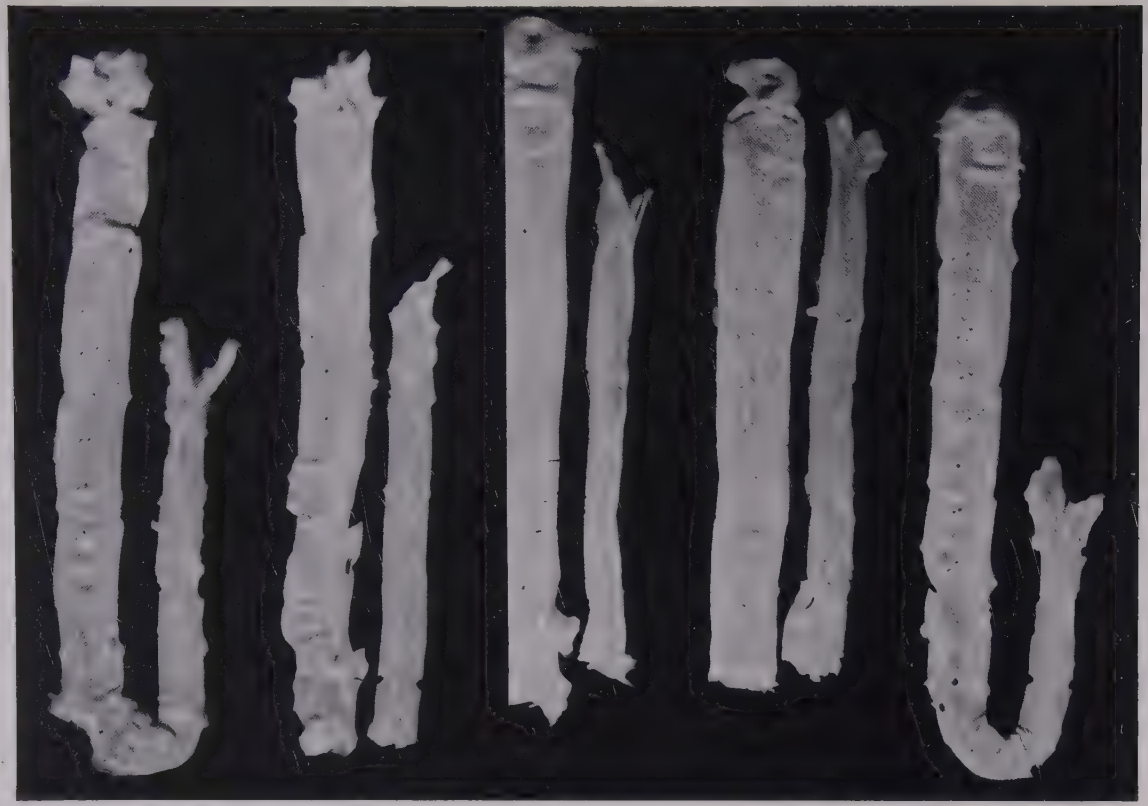
Nr. 34. Aorta zeigt viele gelbliche dicke Plaques auf der ganzen Intima, besonders aber am Arcus.
Nr. 36. Aorta zeigt deutliche Plaques am Arcus und in der Aorta abdominalis, ebenso einige wenige Intimaplaques in Aorta thoracalis.
Nr. 37. Aorta zeigt eine stark veränderte Wand, überall Intimaplaques, besonders stark am konvexen Arcus-Teil.
Nr. 38. Zahlreiche Plaques der Intima, besonders des thoracalen und abdominalen Teils der Aorta.
Nr. 39. Viele spritzerartige gelbe Intimaverdickungen, die im thoracalen Teil besonders deutlich zu erkennen sind.

Durch das beigegebene Bild ist ersichtlich, dass die langdauernde und hochdosierte Cynara-Verabreichung die aortenschädigende Wirkung des Cholesterins nicht aufzuhalten vermochte.

d) Histologische Untersuchung der Aorten:

Die von *Ignatowski* 1908 entdeckten Veränderungen, welche von *Anitschkow* besonders eingehend studiert worden sind, konnten wir regelmässig nachweisen. Der Befund an den Aorten der Tiere, welche die Cynaratherapie durchgemacht hatten, war histologisch genau derselbe wie derjenige der Tiere ohne Cynaratherapie. Einzig bei Nr. 18 zeigte sich eine schwache aber doch deutliche Verkalkung an einer Stelle der innersten Mediaschicht des Arcus. — Solche Verkalkungen fanden wir bei den mit Cynara behandelten Tieren keine. Ueberall fanden wir die bekannte Verdickung der Intima, welche durch Einlagerung von Fettsubstanzen und Verdichtung des interstitiellen Gewebes hervorgerufen ist. An mehreren Stellen der Aorten der *Cynara-Tiere* sowie der anderen, fanden sich eine starke Auflockerung der elastischen Fasern in der innersten Schicht der Media, daselbst eine Ansammlung von runden und spindeligen Bindegewebszellen und starke Verfettung des Interstitiums, es handelte sich also um Atherombildungen.

Kaninchenaorten nach 3½ monatiger Verabreichung
einer täglichen Menge von 1 g Cholesterin und 2,5 cm³ Chophytol, eines Extraktes aus Cynara scolimus.



36 34 38 37 39

Eine Untersuchung der Nativ-Präparate der zehn Aorten im polarisierten Licht ergab folgendes:

Nr. 34, 36, 37, 38, 39 (alle Cholesterin-Chophytol) wiesen einen sehr starken Gehalt der Aortenintima an doppelbrechenden Kristallen auf. Alle Intimapolster sind förmlich von diesen feinen Kristallen aufgefüllt. In der Media und Adventitia finden sich nur ganz vereinzelt kleine doppeltbrechende Kristalle.

Nr. 18, 23, 26, 29, 35 (alle Cholesterin allein) zeigen einen wesentlich geringeren Gehalt an doppelbrechenden Kristallen in den Intimapolstern.

Diese letzte Untersuchung scheint auf einen höheren Gehalt an Cholesterin und Cholesterinester der Aorten der Cynara-Tiere hinzuweisen und wäre vielleicht mit dem bei diesen Tieren beobachteten hohen Cholesterinspiegel des Blutes in Einklang zu bringen.

Die Cholesterin- und Kalziumwerte der Sera der Versuchstiere waren folgende:

1. Cholesterintiere:

Nr.	Cholesterin mg %	Calcium mg %
23		16,2
26	250,0	17,5
29	345,0	18,8
18		17,0
25	460,0	18,0
Durchschnitt	351,6	17,5

2. Cholesterin-Chophytoltiere:

Nr.	Cholesterin mg %	Calcium mg %
34	520,0	18,5
36	571,0	19,0
37	526,0	19,2
38	523,0	18,5
39	526,0	18,2
Durchschnitt	533,2	18,6

e) Kalziumgehalt der veraschten Aorten:

1. Tiere mit Cholesterin allein:

Nr.	Aorten-Aschen-Gew. in mg	Gesamt Ca Gehalt in mg	Ca % der Asche
18	2	0,16	8,0
23		0,26	
26	4	0,24	6,0
29		0,17	
35	2	0,23	11,5
Durchschnitt		0,21	8,5

2. Tiere mit Cholesterinfütterung und Chophytoltherapie:

Nr.	Aorten-Aschen-Gew. in mg	Gesamt Ca Gehalt in mg	Ca % der Asche
34	7	0,49	7,0
36	2	0,25	12,5
37	6	0,48	8,0
38	3	0,29	9,1
39	2	0,37	18,5
Durchschnitt		0,37	10,6

Diese durchschnittlichen Kalziumwerte von 0,21 mg und 0,37 mg für die gesamte Aorta entsprechen durchaus denjenigen, die wir bei normalen jungen Tieren fanden und die mit 0,28 mg oben (S. 14) angegeben sind.

Unter unseren Versuchsbedingungen kam es also sowohl mit als ohne Cynaratherapie zu keiner Kalziumretention im Aortengewebe nach Cholesterinfütterung.

Diskussion und Schlussfolgerungen.

Wir möchten vorerst die Ergebnisse aus den Versuchen kurz zusammenfassen.

In der ersten Versuchsserie ergaben die Versuche mit *Vitamin D allein* die schon lange bekannten Veränderungen. Die Vergiftung bewirkte bei sämtlichen Tieren einen sehr starken Abfall der Körpergewichtskurve, bei stark beeinträchtigtem Allgemeinbefinden. Vier von fünf Tieren kamen am Schluss der Versuchsperiode zum Exitus. Das fünfte Tier musste getötet werden. Die Aorten zeigten makroskopisch

und mikroskopisch die typischen bekannten Veränderungen in der Media, in Form von ausgedehnten Verkalkungen.

Bei der kombinierten Behandlung von *Vitamin D mit Vitamin A* zeigte es sich, dass die Tiere in ihrem Allgemeinbefinden sehr viel weniger gestört waren, als bei reiner Vitamin-D-Vergiftung. Die Gewichtskurven fallen bedeutend weniger steil ab. In einem Fall steigt sie sogar etwas an, in einem anderen bleibt sie ungefähr konstant. Nur ein einziges Tier starb spontan, die anderen mussten getötet werden. Infolge der grösseren Lebensdauer war diese Versuchsperiode um sechs Tage länger. Die Aorten zeigten makroskopisch und mikroskopisch im Prinzip genau die gleichen Veränderungen wie nach reiner Vitamin-D-Fütterung, nur war mit Sicherheit festzustellen, dass die Veränderungen durchschnittlich erheblich stärker waren. Auch die chemischen Bestimmungen des Kalziums in den Aorten ergab das gleiche Ergebnis.

Die Fütterung von *Cholesterin* in Leinöl gelöst wirkte sich auf das Allgemeinbefinden der Tiere in keiner Weise schädlich aus. Die Gewichtskurven dieser Tiere zeigten auch einen steilen Anstieg in allen Fällen. Makroskopisch zeigten die Aorten die typischen, von vielen Autoren beschriebenen Veränderungen. Mikroskopisch waren bei allen Tieren ausgedehnte Intimaverfettungen und Veränderungen typischer Art vorhanden. Bei der Untersuchung im polarisierten Licht zeigten diese Aorten eine relativ geringe Infiltration mit doppelbrechenden Substanzen. Die chemische Kalziumbestimmung ergab Werte, die der Norm entsprechen. Der Cholesterinspiegel im Blut schwankte bei diesen Tieren zwischen 250 und 460 mg %. Das Blutkalzium betrug durchschnittlich 17,5 mg %.

Die kombinierte Behandlung mit *Cholesterin und Chophytol* ergab keine Aenderung im Allgemeinbefinden, auch diese Gewichtskurven stiegen steil an. Makroskopisch zeigten die Aorten dieser Serie eher stärkere Veränderungen, wie sie nach reiner Cholesterinfütterung beobachtet werden konnten. Auch mikroskopisch waren die Veränderungen, die in ihrer Art genau gleich waren, eher stärker ausgebildet, bei gleicher Lebensdauer sämtlicher Tiere. Sehr eigenartig ist der Befund, dass bei der Untersuchung im polarisierten Licht die Aorten der Cholesterin-Chophytol-Tiere eine ausserordentlich starke Infiltration mit doppelbrechenden Substanzen zeigten, im Gegensatz zu den mit reinem Cholesterin gefütterten Tieren. Auch der Blutcholesterinspiegel war durchschnittlich höher bei den kombiniert behandelten Kaninchen und schwankte um 500 mg %. Auch der Kalziumspiegel war etwas höher.

Wir möchten nun auf einige Fragen etwas näher eintreten.

Es ist bekannt, dass zwischen Vitamin D und Vitamin A ein gewisser Antagonismus besteht. *Gross-Sellbeck* hat gezeigt, dass die Giftwirkung des Vitamins D, die sich bei Ueberdosierung beim Kanin-

chen in einem steilen Abfall der Gewichtskurve äussert, durch zusätzliche Fütterung von Vitamin A kompensiert werden kann. Es scheint also das Vitamin A eine antagonistische Schutzwirkung auszuüben. Auch *Thoenes* weist darauf hin, dass die Grösse des Vitamin-A-Bedarfs anscheinend von der Vitamin-D-Aufnahme abhängt. An rhachitischen Ratten wurde festgestellt, dass wohl Vitamin D die Rhachitis beseitigt, dass aber Zugabe von Vitamin A die damit einhergehende Kalkeinlagerung fördert.

Diese Beobachtung konnte sinngemäss auch in unseren Versuchen bestätigt werden, wo die Schutzwirkung des Vitamins A in bezug auf die Allgemeinschäden des Vitamins D ausserordentlich deutlich waren. Immerhin scheint das Vitamin A nicht in der Lage zu sein, die Gewebe vollständig vor Schädigungen zu bewahren, da wir beobachteten, dass die Aorten bei der kombinierten Fütterung eher stärkere Veränderungen zeigten. Es ist dabei eigentümlich, dass der chemisch bestimmte Kalkgehalt der Nieren und der Herzmuskulatur bei der kombinierten Fütterung sehr wesentlich geringer ist als bei Vitamin-D-Fütterung allein, im Gegensatz zu dem Kalkgehalt der Aorten, der sich umgekehrt verhält und nach Vitamin D + Vitamin A deutlich grösser ist. Warum dies so ist, ist schwer zu erklären; man muss immerhin festhalten, dass zwischen Muskel und Nierengewebe einerseits und Aortengewebe andererseits ein sehr erheblicher Unterschied besteht, indem das Aortengewebe zu den sogenannten bradytrophen *(Bürger)*, schlecht ernährten Geweben gehört. Die verhältnismässig geringeren Verkalkungen in den Organgeweben infolge Zugabe von Vitamin A, steht mit dem wesentlich besseren Allgemeinbefinden in Einklang. Das Vitamin A scheint hier eine deutliche Schutzwirkung auszuüben und damit lebenswichtige Organfunktionen vor der toxischen Wirkung des Vitamins D zu bewahren. Die Verkalkung ist ja unter allen Umständen ein sekundärer Prozess, der sich in nekrotischem oder zum mindesten geschädigten Gewebe etabliert und dessen Grad ausserordentlich stark vom Ernährungszustand des Gewebes abhängt. Schlechte Ernährung begünstigt die Verkalkung, gute Durchblutung hindert sie, wie das auch aus den Verhältnissen des Knochen- und Knorpelgewebes bei der Rhachitis hervorgeht. Wir können also aus der Tatsache der geringeren Verkalkung der Organgewebe mit einem gewissen Recht den Schluss ziehen, dass diese Gewebe infolge der Zugabe von Vitamin A auch in ihrem Eiweissbestand weniger geschädigt sind. Das bradytrophe Aortengewebe scheint sich in dieser Beziehung etwas anders zu verhalten. Seine Tendenz zur Verkalkung ist besonders gross, sodass wohl auch geringe Gewebeschäden zu ausgedehnten Verkalkungen führen. Es ist ferner vor allem zu betonen, dass die lokalen Verhältnisse in der Aorta anders sind als z. B. im Herzmuskel. In letzterem stört eine lokale Verkalkung die Durchführung und Ernährung der Umgebung nicht. In der Aorta dagegen, wo die Ernährung einerseits vom

Lumen her, andererseits durch die Vasa vasorum erfolgt, bewirkt eine entstehende Verkalkung eine *zusätzliche* ausserordentliche Erschwerung der Wanddurchströmung und damit auch eine weitere Zunahme der Gewebsschäden. Da das Vitamin A sicher nicht in der Lage ist, die toxische Wirkung des überdosierten Vitamins D vollständig aufzuheben, ist es verständlich, dass auch trotz Vitamin A in der Aorta Gewebsalterationen gesetzt werden, die in Nekrosen oder zum mindesten physikalisch-chemischen Veränderungen der Eiweissubstanzen bestehen *(Schönholzer)*.

Wenn auch diese Schäden bei der kombinierten Behandlung an sich vielleicht kleiner sind, was aus unseren Versuchen nicht beurteilt werden kann, so ist aus den oben erwähnten Gründen doch verständlich, dass gerade in der Aorta mit ihren speziellen Ernährungsverhältnissen die Verkalkungen trotzdem sich stark ausbildeten. Die Zunahme des chemisch bestimmten Kalziumgehalts ist zudem bei den kombiniert behandelten Tieren nicht sehr stark. Sie könnte sich sogar daraus wohl ganz erklären lassen, dass die Lebensdauer dieser Tiere um mehrere Tage länger war, sodass die Verkalkung einfach mehr Zeit hatte, sich auszubilden. Wir können also nicht behaupten, dass die Verkalkungen bei kombinierter Behandlung stärker ausfallen, müssen aber feststellen, dass das Vitamin A nicht in der Lage ist, die Aorta vor den schädlichen Einflüssen des Vitamins D zu schützen, dass aber eine deutliche Schutzwirkung in bezug auf das Allgemeinbefinden, die Körpergewichtsverhältnisse und gegenüber den inneren Organen besteht.

Was nun die Veränderungen nach *Cholesterinfütterung* mit und ohne zusätzliche Behandlung mit Chophytol betrifft, so waren die Ergebnisse der Versuche für uns überraschend. Auf Grund der Beobachtungen verschiedener Autoren, die wir oben erwähnt haben, hätten wir erwartet, dass durch das Chophytol eine Schutzwirkung auf die Aorta zustande kommen sollte. Dies ist nun nicht der Fall. Nach Fütterung mit Cholesterin und zusätzlicher Behandlung mit Chophytol ist sowohl der Blutcholesterinspiegel deutlich höher, wie auch die Lipoidinfiltration in der Aorta eher stärker. Das Chophytol vermag also nicht dieselbe Wirkung auszuüben, wie sie vom Iod, von den Schilddrüsenpräparaten und anscheinend auch vom Chlorophyll bekannt ist. Nach unseren Vorstellungen ist auch die Cholesterinsklerose nicht ausschliesslich abhängig vom Grad der Hypercholesterinämie, sondern auch hier muss betont werden, dass die ganz ausserordentlich einseitige Belastung des Kaninchenorganismus durch die völlig ungewohnte Ernährung, Stoffwechselstörungen entstehen, die Schädigungen im Gewebe zur Folge haben. Wir sind hierin der gleichen Ansicht wie *Klotz*, der ebenfalls annimmt, dass zur Cholesterinsklerose nicht nur eine Hypercholesterinaemie, sondern auch eine Disposition der Gefässwand nötig ist. Es gibt denn auch infolge einseitiger Cholesterinernährung

Veränderungen im physikalisch-chemischen Zustand der Eiweisskörper, Veränderungen, die sich in einer leichteren Fällbarkeit der löslichen Eiweisskörper äussern oder, mit anderen Worten, in einem Hervortreten gröber disperser Körper *(Schönholzer)*. Diese Vorgänge begünstigen die Adsorption von Fremdstoffen, auch von Cholesterin. Die Störungen im Eiweissbestand beruhen nach unserer Ansicht letzten Endes einerseits auf einer Störung der Ernährung der Gefässwand, andererseits auf einer Herabsetzung der oxydativen Prozesse in den Zellen selber *(Frey)*. Wie diese Ernährungsstörungen zustande kommen, ist für einige skleroseerzeugende Faktoren, besonders auch nach den Untersuchungen von *Lange*, klar (künstliche Hypertention, Adrenalinvergiftung, manche andere Giftwirkungen). Es handelt sich immer um Störungen im neuromuskulären Apparat, damit um Aenderungen in der Gefässweite und infolgedessen in der Durchströmung der Wand. Beim Cholesterin ist ein ähnlicher Mechanismus zu vermuten, aber nicht nachgewiesen. Man könnte hier auch annehmen, dass das Cholesterin durch eine Dämpfung der Schilddrüsenfunktion, die bekannt ist, wirkt. *Markoff* hat z. B. nachgewiesen, dass die Indophenoloxydase in den Geweben stark vermehrt ist nach Thyroxinzufuhr und dass das Cholesterin eine dazu entgegengesetzte Wirkung hat. Es könnte also vermutet werden, dass der Gewebeschaden nach Cholesterinfütterung in einer Herabsetzung der Gewebsaktivität und Oxydationsgrösse durch eine Dämpfung der Schilddrüse besteht.

Von diesen Gesichtspunkten aus ist nun durchaus verständlich, dass das Thyroxin und auch das Iod, das wahrscheinlich via Schilddrüse wirkt, die Cholesterinsklerose zu verhindern vermag. Durch die künstliche Zufuhr von Schilddrüsenhormon in richtiger Dosierung wird der Gewebsschaden verhütet oder vermindert, sodass die Gefässwand bedeutend weniger Cholesterin aufnimmt, abgesehen davon, dass auch der Blutcholesterinspiegel durch das Thyroxin gesenkt wird. Auf diese Weise lässt sich auch die doch angenommene günstige Iodwirkung auf die menschliche Arteriosklerose erklären, bei der sicher nicht in allen Fällen eine Hypercholesterinaemie besteht. Eine ähnliche Wirkung wäre eventuell für das Chlorophyll verständlich, das ja als allgemeines Zelltonikum bezeichnet wurde und das bei der Pflanze im Atmungsprozess eine ausschlaggebende Rolle spielt.

Die Wirkung des Chophytols, die beim Menschen ohne Zweifel in einer Beeinflussung des Cholesterinstoffwechsels in einer günstig erscheinenden Weise besteht, ist wohl anders zu bewerten. Es handelt sich anscheinend eben um eine spezielle Wirkung auf den Cholesterinstoffwechsel, deren Mechanismus nicht ganz klar ist. Die französischen Autoren sind der Ansicht, dass der Ort der Wirkung die Leber ist, wo das Chophytol ferner auch die Harnstoffbildung fördert. Ferner wird auch eine Wirkung auf die Wasserausscheidung und Harnstoffausscheidung angenommen. Wir haben es hier also nicht mit einem

Körper zu tun, der die Zellen in einer Art zu beeinflussen vermag, die sich mit der Wirkung des Schilddrüsenhormons oder des Iods vergleichen lässt. Wir möchten also annehmen, dass das Chophytol an den entstehenden Gewebsschäden nichts zu ändern vermag, und dass höchstens eine Beeinflussung des Cholesterinstoffwechsels zu erwarten wäre. Dies ist nun bei massiver Fütterung der Kaninchen mit Cholesterin anscheinend auch nicht der Fall. Man muss sich immer klar sein, dass diese Fütterungsversuche eine ungeheure Ueberlastung des Kaninchenorganismus mit einer ganz ungewohnten Substanz darstellen und muss sich ferner vorstellen, dass das Kaninchen ganz besonders empfindlich ist infolge seines schlecht ausregulierten Stoffwechsels. Es ist daher verständlich, dass eine Substanz wie das Chophytol, auch wenn sie im Cholesterinstoffwechsel noch angreift, eine derartig massive Ueberschwemmung nicht verhindern kann. Die eher noch höheren Cholesterinwerte im Blut zeigen dies deutlich.

Wir nehmen daher an, dass im Fall der Fütterung mit Cholesterin und bei zusätzlicher Behandlung mit Chophytol die Komponente der Gewebsschädigung nicht beseitigt wird und auch die Cholesterinüberschwemmung des Organismus nicht verhindert werden kann. Die Folge davon ist das Auftreten einer Cholesterinsklerose der Aorta, die sich makroskopisch und mikroskopisch in nichts von den üblichen Veränderungen unterscheidet. Die verhältnismässig geringfügigen quantitativen Unterschiede müssen sehr vorsichtig beurteilt werden, da die Kaninchen je nach Rasse und besonders individuell oft sehr verschieden reagieren.

Trotz der in der gesuchten Richtung negativen Ergebnisse, trotzdem die Cholesterinsklerose, die ja in einem gewissen Sinn ein gewaltsames Kunstprodukt ist, durch das Chophytol nicht verhindert werden kann, verliert diese Substanz nichts an Interesse. Sie scheint eben nur in der Lage zu sein, in den Cholesterinstoffwechsel einzugreifen und wohl nur bei einigermassen physiologischen Verhältnissen. Sie darf deshalb in der menschlichen Therapie nur als Hilfsmittel aufgefasst werden, das einen Teilfaktor in der Pathogenese der Arteriosklerose zu beeinflussen vermag, das aber nicht am zentralen Punkt angreift, wie es z. B. das Thyroxin in einem gewissen Sinne tut.

Die eigenartige Tatsache, dass nach kombinierter Behandlung der Gehalt der Aorten an doppelbrechenden Substanzen ganz erheblich grösser ist als bei einfacher Cholesterinfütterung, bei durchaus gleichem histologischem Befund, können wir nur festhalten. Eine einigermassen plausible Erklärung dafür haben wir nicht, da die Grundlagen dafür fehlen. Die eigenartige Wirkung des Chophytols auf den Cholesterinstoffwechsel und auf das cholesterolytische Vermögen des Blutserums ist auch nur empirisch bekannt, aber durchaus unerklärt. Es ist auch die Frage des Lösungsvermögens des Serums an sich völlig unklar, wenn auch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit angenommen

werden kann, dass andere Lipoide in dieser Beziehung eine wesentliche Rolle spielen. Aus diesen Gründen kann die Tatsache der vorwiegenden Anreicherung von doppelbrechenden Substanzen bei der kombinierten Behandlung am Kaninchen nicht erklärt werden, sondern kann nur durch weitere Versuche erforscht werden.

Zusammenfassung.

1. Beeinflussung der Vitamin-D-Schädigung durch Zufuhr von Vitamin A.

Zehn Versuchstieren wurden während zehn Tagen mit 3 mg Vitamin D (= 15000 I.E.) pro die in Form von Vigantol zugeführt. Fünf dieser Tiere waren während einem Monat mit einer täglichen Dosis von 120000 I.E. Vitamin A in Form von Vogan vorbehandelt worden und bekamen während der Vitamin-D-Zufuhr weiterhin Vitamin A.

Es zeigte sich, dass das Vitamin A eine deutliche Schutzwirkung gegen die Vergiftung mit Vitamin D entfaltet, welche sich auf die Gewichtskurve, das Allgemeinbefinden, die Fresslust und die Mortalität auswirkt. Sie tritt ferner durch eine chemisch sehr deutlich feststellbare geringere Verkalkung des Nieren- und des Herzmuskelgewebes zum Ausdruck.

Im Gegensatz dazu wiesen alle zehn Tiere schwere Mediaverkalkungen der Aorta auf. Makroskopisch, mikroskopisch und auch chemisch war der Kalziumgehalt der mit Vitamin A behandelten Tiere etwas grösser als der der übrigen. Dies beruht zum Teil wohl auf der längeren Lebensdauer. Die Zufuhr von Vitamin A ist demnach nicht imstande, die Aortenveränderungen nach Vergiftung mit Vitamin D zu verhüten oder zu vermindern.

2. Beeinflussung der Cholesterinsklerose der Kaninchenaorta durch Cynara scolymus (Chophytol).

Zehn Versuchstiere wurden während 105 Tagen täglich mit 1 g Cholesterin, gelöst in Leinöl, gefüttert. Fünf von ihnen bekamen täglich eine Injektion von 2,5 cm^3 Chophytol.

Das Allgemeinbefinden war bei allen Tieren gut, die Gewichtskurve stieg an.

Die Aortenveränderungen waren bei allen Tieren vorhanden, deutlich und typisch. Sie bestanden im wesentlichen in der bekannten Intimalipoidose. Die Veränderungen waren bei den Chophytoltieren makroskopisch und mikroskopisch eher etwas ausgesprochener. Bei den letzteren handelte es sich dabei in weit grösserem Mass um doppelbrechende Substanzen.

Die Hypercholesterinaemie war bei den Chophytoltieren eher höher als bei den übrigen.

Das Chophytol vermag im Tierversuch die experimentelle Cholesterinsklerose weder zu verhüten noch zu vermindern. Da andererseits die Wirkung auf den Cholesterinstoffwechsel und besonders das cholesterolytische Vermögen nachgewiesenermassen vorhanden ist, wird angenommen, dass es sich bei der Chophytolwirkung um eine Beeinflussung von Stoffwechselvorgängen, möglicherweise in der Leber handelt, dass aber die Gewebsdisposition in der Gefässwand nicht beeinflusst wird, wie das zum Beispiel vom Thyroxin angenommen wird. Es handelt sich daher bei der Chophytoltherapie um die Beeinflussung eines Teilfaktors in der Entstehung der Atherosklerose, nicht um eine eigentlich kausale Therapie.

Herrn Prof. Dr. Frey und PD. Dr. Schönholzer möchte ich an dieser Stelle meine grosse Dankbarkeit aussprechen für das Ueberlassen des Materials und ihre aufopfernde Mithilfe.

Literaturverzeichnis.

I. Vitamin-D-Sklerose:

Arteriosclerosis, a survey of the problem: *E. Cowdry,* New York 1933.
Bürger: Die Alternusveränderungen der Aorta. 1. Congr. Union Thérapeutique, Berne, 77, 1938.
Gordonoff: Cholesterin und Ergosterinproblem. Wiener med. Wochenschrift, *24,* 1937.
Gross-Selbeck: Ueber die Verhütung von Vitamin-D-Schäden durch Vitamin-A-Zufütterung. Klinische Wochenschrift 1935, I., S. 61 bis 62.
Ham: Mechanism of calcification in the heart and aorta in hypervitaminosis D. Arch. Path. *14,* 613, 1932.
Hintsche: Die Ascheverteilung in der normalen Aortenwand. Zeitschrift für mikroskopisch-anatomische Forschung *45,* 531 bis 538, 1939.
Harrison: Experimental arterial disease produced by Cholesterol and Vit. D. — J. of Bakt. & Path. *46,* 447, 1933.
Herzenberger: Studien über die Wirkungsweise des bestrahlten Ergosterins (Vigantol) und die Beziehungen der von ihm gesetzten Veränderungen zur Arteriosklerose. Ziegler Beitr. Path. Anat. *82,* 27, 1929.
Hückel und Wenzel: Ueber Veränderungen im Tierkörper durch Vergiftung durch bestrahltes Ergosterin, insbesondere über Veränderungen der Arterien. Zeitschrift für Kreislaufforschung *21,* 409, 1929.
Junk: Die Uebertragung des Vigantolgefässschadens vom mütterlichen auf den kindlichen Organismus im Tierexperiment. Virch. Arch. *283,* 265, 1932.
Kreitmaier und Moll: Hypervitaminose durch grosse Dosen Vitamin D. Münchner med. Wochenschrift *75,* 637, 1928.
Lange: Hypertonie und Sklerose der Blutbahn. Dresden, Th. Steinkopf, 1941.
Lass: Die Anfänge der Vigantolschäden beim Kaninchen. Virchow's Archiv *278,* 346, 1930.
Nicole: Ueber die Vitaminsklerose der Aorta, besonders ihre Anfänge. Zeitschrift für experiment. Medizin *70,* 193, 1930.
Orzechowsky: Knoblauchöl bei subakuter Vigantolvergiftung. Naunyn-Schmiedebergs Archiv 175, 265, 1934.
Pfannenstiel: Referat, Klinische Wochenschrift 1927, Nr. 48, S. 2310.
— Weitere Beobachtungen über Wirkungen bestrahlten Ergosterins im Tierversuch, Med. Wochenschrift 75, 1113, 1928.
Rabl: Organverkalkungen unter dem Einfluss von Vitamin D. Deutsche med. Wochenschrift *55,* 63, 1929.

Sanchez: Ueber die Möglichkeit der Entgiftung des Vitamins D durch Hefe. Univers. Kinderklinik Hamburg, Diss.
Schaal: Kann die Vitamin-D-Wirkung durch Thyreoidea verstärkt werden? Zeitschrift für Kinderheilkunde *56,* 1934, 55.
Schiff: Die durch Vigantol erzeugbaren Gefässchäden und ihre Rückbildungsfähigkeit im Tierversuch. Virchow Archiv *278,* 62, 1930.
Schmidtmann: Ist der Vigantolgefässchaden rückbildungsfähig? Klinische Wochenschrift *8,* 2099, 1929.
Schönheimer: Bestehen Beziehungen zwischen Ergosterin und der Aortenverkalkung bei menschlicher Aortensklerose? Zeitschrift für Pysiologische Chemie *211,* 65, 1932.
Thoenes: Ueber die Korrelation von Vitamin A und D. Deutsche med. Wochenschrift 1935, II., 2079.
Varela Colazo Moreau Rubino: Experimentelle Arteriosklerose im Verlauf der Hypervitaminose D bei Kaninchen und Ratten. Virchow Archiv *274,* 270, 1929.
Van Slyke und Sendroy: Fällung des Kalziums als Ca oxalat. J. of Biolog. Chem. *84,* 217, 1929.

II. Cholesterinsklerose.

Anitschkow: Das Wesen und die Entstehung der Atherosklerose. Erg. inn. Med. und Kinderheilk. 28, 1, 1925.
Anitschkow und Chalatow: Ueber die experimentelle Cholesterinsteatose. Cbl. f. Path. 24, 1, 1913.
Chabrol, Charonnat, Maximin und Weitz: C. r. Soc. biol., Paris, Dez. 1931, Dez. 1935.
Edgar Rosa: La Nature, November 1937.
Friedland: Untersuchungen über den Einfluss der Schilddrüsenpräparate auf die experimentelle Hypercholesterinaemie und Atherosklerose. Z. exper. Med. *87,* 683, 33.
Frey: Arteriosclerose, Verhd. dtsche Ges. f. innere Med. Bd. 51, 51, 1939.
Gordonoff: Zur Pharmakotherapie der Arteriosklerose. Schw. med. Wochenschrift *62,* 232, 1932.
— Cholesterin, Ergosterin und Gefässklerose. Schw. med. Wochenschrift, Nr. 13 und 31, 1934.
Handovsky und Goormaghtigh: Vitamin-D, Schilddrüse und Arteriosklerose. I. Congrès int. Union Thérap. 118, 1937.
Ignatowsky: Zur Frage über den Einfluss der animalischen Nahrung auf den Kaninchenorganismus. Ber. kais. mil. Akad. St. Petersburg *16,* 174, 1908.
Klotz: Experimental Arteriosclerosis and its teaching in reference to the aetiology of human arteriosclerosis. C. r. II., Conf. int. Path. geogr. 120, 1934.
Liebig: Die Beeinflussung der exp. Atherosklerose durch Jodbehandlung. Arch. f. exp. Path. und Pharm. 159, 265, 31.
Markoff: Ueber den Einfluss des Thyroxins auf die Gewebsoxydation. Beitr. path. Anat. 94, 377, 1935.
Schönholzer: Ueber die Beeinflussung des Cholesterinstoffwechsels durch das aktive Prinzip der Artischocke und seine Anwendung in der Therapie der Arteriosklerose. Schw. med. Wochenschrift *69,* 1282, 39.
Schönheimer: Zur Chemie der gesunden und arteriosklerotischen Aorta. Z. f. physiolog. Chemie 177/178, 143, 28.
Tixier: Action physiologique et thérapeutique du cynara scolymus. Presse méd., 3. Juni 1939.
Tixier und Eck: Traitement de l'hypercholesterinemie. Soc. thérap., octobre 1934.
Tixier, Eck und Christophe: L'heureuse influence de la feuille d'artichaut sur le taux de la cholestérine et de l'urée sanguine. Soc. Thérap., April 1933.
Turner: Prevention of Cholesterol arteriosclerosis. J. of. exp. Med. *58,* 115, 1933.
Wacker und Hueck: Ueber experimentelle Atherosklerose und Cholesterinaemie. M. med. Wochenschrift *60,* 2097, 1913.
Wegelin: Ueber die Arteriosklerose. Schw. med. Jb. 1935.